

Determination of total flavonoid content in avocado (*Persea americana* Mill.) using spectrophotometry method

Penetapan kadar flavonoid total alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri

Hani Asmorowati*, Novena Yety Lindawati

Jurusan Farmasi STIKES Nasional Surakarta, Sukoharjo, Jawa Tengah

*Corresponding author. Email: haniasmorowati16@gmail.com

Abstract

Background: Flavonoids are antioxidants that can reduce insulin resistance, increase insulin sensitivity, and improve the functions of pancreatic beta cells. Sources of flavonoids can be found in avocados.

Objective: This study aimed to determine the total flavonoid content in two different type of avocado (*Persea americana* Mill.) using the Uv-Vis spectrophotometric method.

Method: In the Uv-Vis spectrophotometry, the wavelength was measured at 413.6 nm with $AlCl_3$ reagent to form complex compounds.

Results: The average total flavonoid content in the ethanol extract of common avocados was 10.95% b/b with coefficient of variation of 0.33% and 10.31% b/b with 0.28% coefficient of variation in butter avocados.

Conclusion: The t-Test showed that the total flavonoid content in ordinary avocados and butter avocados differed significantly ($p = 0.000 (<0.05)$).

Keywords: flavonoids, avocados, spectrophotometry.

Intisari

Latar belakang: Flavonoid merupakan antioksidan yang dapat menurunkan resistensi insulin, meningkatkan sensitivitas insulin, serta memperbaiki fungsi sel-sel beta pankreas. Sumber flavonoid dapat ditemukan pada buah alpukat.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar flavonoid total dari dua varian buah alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis.

Metode: Pada metode spektrofotometri Uv-Vis, diukur pada panjang gelombang 413,6 nm dengan reagen $AlCl_3$ sebagai pembentuk senyawa kompleks.

Hasil: Didapatkan kadar rata-rata flavonoid total pada ekstrak etanol buah alpukat biasa 10,95% b/b dengan koefisien variasi 0,33% dan pada alpukat mentega 10,31% b/b dengan koefisien variasi 0,28%.

Kesimpulan: Uji statistik *T-Test* menunjukkan bahwa kadar flavonoid total pada buah alpukat biasa dan alpukat mentega terdapat perbedaan yang signifikan ($p = 0,000 (< 0,05)$).

Kata kunci: flavonoid, alpukat, spektrofotometri

1. Pendahuluan

DM (Diabetes Mellitus) atau kencing manis merupakan salah satu jenis penyakit menahun, yang angka kejadiannya semakin meningkat dari tahun ke tahun. Data yang diperoleh dari lembaga kesehatan dunia atau *World Health Organization* (WHO) mencatat pada tahun 2000, penderita diabetes mellitus di Indonesia sebanyak 8,4 juta orang, dan diperkirakan akan

meningkat menjadi 21,3 juta penderita pada tahun 2030 mendatang. Penyakit ini dapat dicegah dengan cara memperbaiki pola gaya hidup. (Rudijanto, 2014).

Gaya hidup kembali ke alam (*back to nature*) menjadi cukup populer saat ini sehingga masyarakat kembali memanfaatkan berbagai bahan alam, termasuk pengobatan dengan tumbuhan obat. Tanaman berkhasiat obat mempunyai nilai lebih ekonomis dan efek samping lebih kecil dibandingkan dengan obat-obat sintetis. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat yaitu buah alpukat (*Persea americana* Mill.). Menurut Malangngi, *et al.* (2012), buah alpukat memiliki dua varietas, yaitu alpukat varietas merah bundar atau disebut alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan varietas alpukat hijau panjang atau disebut alpukat mentega (*Persea americana* Mill.). Kandungan kimia dari daging buah alpukat yaitu flavonoid, saponin, alkaloida, dan tannin.

Menurut Fathonah, *et al.* (2014) flavonoid merupakan antioksidan yang dapat menurunkan resistensi insulin, meningkatkan sensitivitas insulin, serta memperbaiki fungsi sel-sel beta pankreas. Alpukat merupakan salah satu buah sumber flavonoid yang dapat digunakan sebagai buah pilihan bagi penderita diabetes mellitus. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.).

2. Metodologi penelitian

2.1. Alat dan bahan penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, kain hitam, blender, kertas saring, toples kaca, gelas beker (Pyrex), batang pengaduk, corong kaca (Pyrex), *rotatory evaporator* (RV 10 Basic V), neraca analitik (Ohaus EP214), kaca arloji, cawan penguap, gelas ukur (Pyrex), *chamber*, pipet tetes, pipet ukur (Iwaki), pipet volume (Iwaki), labu ukur (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), dan seperangkat alat spektrofotometri uv - vis (Shimadzu UV mini 1240).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah alpukat biasa dan alpukat mentega, etanol 70%, HCl pekat, serbuk Mg, baku kuersetin (Sigma Aldrich), $AlCl_3$ 10% (Merck), asam asetat 5% (Merck), silika gel GF₂₅₄ (Merck), etil asetat (Merck), kloroform (Merck), metanol (Merck), dan aquadest.

2.2. Pengambilan dan pengolahan sampel

Pengambilan sampel buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) diperoleh dari kawasan pertanian di Tawangmangu RT 05 RW 02, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Determinasi buah alpukat biasa dan alpukat mentega dilakukan dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada buah alpukat biasa dan alpukat mentega di Laboratorium Biologi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Jawa Tengah. Daging buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea*

americana Mill.) dilakukan perubahan bentuk dengan cara dipotong-potong kecil dengan tebal 0,5 mm-1 mm, selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama beberapa hari pada udara terbuka dengan tidak terkena sinar matahari langsung, yaitu dengan ditutup kain hitam. Sampel kering kemudian diblender, sehingga didapatkan serbuk kering.

2.3. Pembuatan ekstrak

Masing-masing sebanyak 200 gram sampel kering buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Ditambahkan dengan etanol 70% sebanyak 1,5 liter (1:7,5) sampai seluruh sampel terendam, kemudian ditutup dan dibiarkan selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Maserat disaring dengan menggunakan kain flanel, dipisahkan antara ampas dan filtratnya. Ampas dimaserasi kembali dengan etanol 70% sebanyak 0,5 liter (1:2,5) selama 1 x 24 jam. Selanjutnya disaring menggunakan kain flanel untuk memperoleh filtrat. Semua filtrat disatukan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotatory evaporator* sampai tidak ada lagi cairan yang menetes sehingga diperoleh ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.). Preparasi sampel dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

2.4. Uji kualitatif flavonoid

2.4.1. Uji flavonoid dengan pereaksi Wilstater

Masing-masing 100 mg ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) ditambahkan beberapa tetes HCl pekat. Ditambahkan sedikit serbuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna merah-orange (Yuda, *et al.*, 2013).

2.4.2. Uji flavonoid dengan pereaksi Smith-Metcalfe

Masing-masing 100 mg ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian dipanaskan. Hasil positif jika memberikan warna putih (Yuda, *et al.*, 2013).

2.4.3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dan fase geraknya adalah kloroform : metanol (1:4) sebanyak 10 mL. Sebanyak 0,01 gram ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan kuersetin standar, masing-masing dilarutkan dalam 0,5 mL etil asetat, kemudian ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng KLT. Lempeng KLT dikeringkan dan di elusi. Bercak kromatogram (noda) yang dihasilkan diamati dengan penampak noda sinar ultraviolet 254 nm (Priyanto, *et al.*, 2014). Lempeng KLT disemprot dengan reagen semprot AlCl₃. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada ekstrak etanol 70% buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.).

2.5. Uji kuantitatif kandungan flavonoid

2.5.1. Pembuatan larutan baku induk kuersetin 1000 ppm

Ditimbang sebanyak 100 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dengan etanol 70% sampai dengan 100 mL.

2.5.2. Pembuatan larutan baku kerja kuersetin 100 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya sampai 10 mL dengan etanol 70% sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm.

2.5.3. Pembuatan larutan blanko

Pipet 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%, tambahkan etanol 70% sampai dengan 10 mL.

2.5.4. Penentuan operating time

Larutan baku kerja kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum teoritis 415 nm (Ipandi, *et al.*, 2016) dengan interval waktu 2 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil. Diamati kurva hubungan antara absorbansi, waktu, dan tentukan *operating time*.

2.5.5. Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maks) kuersetin

Larutan baku kerja kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Lakukan pembacaan dengan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 370-450 nm. Hasil panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) (Sari & Ayuhecacia, 2017).

2.5.6. Pembuatan kurva baku kuersetin

Larutan baku induk kuersetin 1000 ppm, kemudian dipipet sebanyak 0,2 mL; 0,3 mL; 0,4 mL; 0,5 mL; 0,6 mL dan ditambahkan etanol 70% sampai volumenya 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi yaitu 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm. Masing-masing konsentrasi dari seri baku kuersetin dipipet 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%, didiamkan selama *operating time*. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Sari & Ayuhecacia, 2017).

2.5.7. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.)

Ditimbang 100 mg masing-masing ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dilarutkan dengan etanol 70% sampai volumenya 100 mL. Larutan tersebut masing-masing dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Sampel didiamkan selama

operating time. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Sari & Ayuhecaria, 2017).

2.6. Analisis data penelitian

2.6.1. Perhitungan kadar

Kadar flavonoid dihitung dengan pengukuran ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) kemudian dihitung dengan rumus:

$$y = a + bx$$

Dimana:

y = serapan (absorbansi)

a = intersep (titik potong kurva terhadap sumbu y)

b = kemiringan (slope) kurva linier

x = konsentrasi (ppm)

r = koefisien relasi

2.6.2. Perhitungan Koefisien Variasi (% KV)

Perhitungan % KV digunakan untuk mengetahui perbandingan antara simpangan kadar flavonoid total dengan rata-rata kadar sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) yang dinyatakan dalam %. Nilai koefisien variasi dinyatakan baik apabila kurang dari 2% (Snyder, *et al.*, 2010). Koefisien variasi dirumuskan dengan:

$$\% KV = \frac{SD}{\text{rata-rata kadar sampel}} \times 100\% \quad (1)$$

2.6.3. Uji Statistika

Uji *Independent T Test* digunakan untuk menguji perbedaan rata-rata antara dua kelompok Independen, sehingga uji ini digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan kadar flavonoid total yang signifikan antara sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) (Riyanto, 2011).

3. Hasil dan pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dengan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis. Metode spektrofotometri Uv-Vis dipilih karena metode yang sederhana, mudah, dan cepat dibandingkan dengan metode yang lain, selain itu dapat digunakan untuk analisis suatu zat berwarna maupun tidak berwarna dalam kadar kecil.

3.1. Preparasi sampel

Buah alpukat biasa dan alpukat mentega dilakukan determinasi dengan tujuan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian. Hasil determinasi

menyatakan bahwa buah yang digunakan dalam proses penelitian yaitu buah alpukat biasa dengan nama spesies (*Persea americana* Mill.) termasuk ke dalam familia Lauraceae dan buah alpukat mentega dengan nama spesies (*Persea americana* Mill.) termasuk ke dalam familia Lauraceae.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Proses ekstraksi dilakukan bertujuan untuk mengambil senyawa kimia yang terkandung dalam sampel. Pelarut yang digunakan pada maserasi adalah etanol 70% yang bersifat polar, sehingga dapat menarik secara maksimal senyawa flavonoid yang bersifat polar juga.

Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dan selanjutnya ampas di maserasi kembali selama 1 x 24 jam dengan pelarut etanol 70% yang baru. Tujuan dilakukan maserasi kembali yaitu untuk memaksimalkan proses penyarian sehingga ekstrak yang didapat lebih maksimal. Pada proses maserasi cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Pelarut yang telah menyari zat aktif akan ada pada kondisi terpekat dan akan didesak keluar karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan dengan yang di luar sel (Depkes RI, 1989).

Seluruh filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotatory evaporator* dengan suhu maksimal 50°C dan dengan kecepatan 125 rpm. Maksimal suhu yang digunakan adalah 50°C bertujuan untuk menghindari terjadinya kerusakan zat aktif akibat pengaruh suhu tinggi. Tujuan dari pemekatan adalah untuk memisahkan pelarut etanol 70% dengan filtrat yang diperoleh sehingga didapatkan ekstrak kental.

Hasil organoleptis ekstrak buah alpukat biasa dan alpukat mentega yaitu berbentuk cairan kental, berbau khas, dan berwarna coklat tua. Hasil rendemen yang diperoleh pada ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dari tiga kali replikasi berturut-turut yaitu 22,25%, 20,60%, dan 20,45% serta untuk alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dari tiga kali replikasi berturut-turut yaitu 32,35%, 32,95%, dan 32,65%. Hasil rendemen yang diperoleh pada ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen sampel

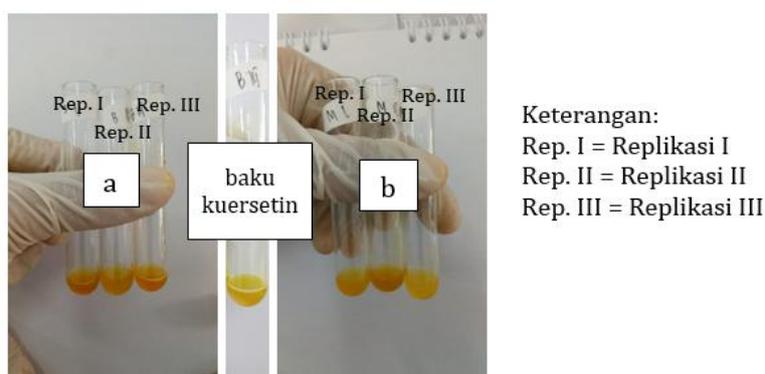
Sampel ekstrak etanol 70%	Hasil rendemen		
	Replikasi 1 (%)	Replikasi 2 (%)	Replikasi 3 (%)
Buah alpukat biasa	22,25	20,60	20,45
Buah alpukat mentega	32,35	32,95	32,65

3.2. Uji kualitatif

Uji kualitatif senyawa flavonoid dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid dalam sampel sebelum dilakukan uji kuantitatif. Uji kualitatif senyawa flavonoid meliputi pereaksi Wilstater, pereaksi Smith-Metcalfe, dan metode KLT.

3.2.1. Pereaksi Wilstater

Hasil identifikasi sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dari tiga kali replikasi dengan penambahan HCl pekat dan serbuk Mg menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid dengan adanya perubahan warna dari coklat ekstrak menjadi orange. Hal ini sesuai dengan baku kuersetin sebagai pembanding yang memiliki perubahan warna yang serupa yaitu warna orange.

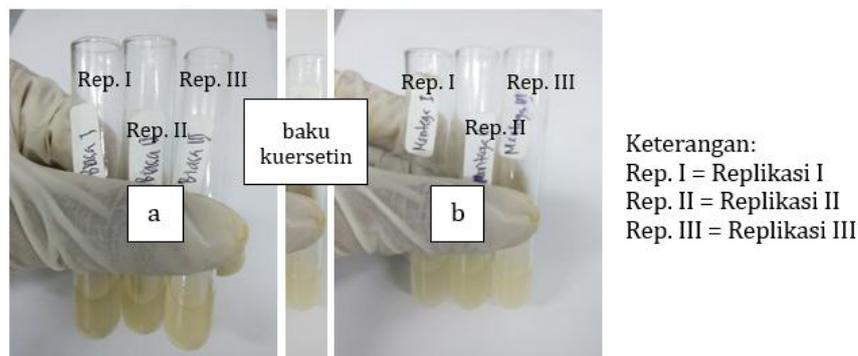


Gambar 1. Hasil uji flavonoid dengan pereaksi Wilstater buah alpukat biasa (a) dan buah alpukat mentega (b) positif mengandung flavonoid, ditunjukkan dengan warna orange yang serupa dengan baku kuersetin

Gambar 1 menunjukkan hasil uji flavonoid dengan pereaksi Wilstater. Penambahan HCl berfungsi untuk mendeteksi senyawa yang mengandung inti benzopiranon, sehingga setelah penambahan HCl akan menghasilkan garam benzopirilium yang disebut juga garam flavilium. Reduksi dengan Mg dan HCl menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna orange pada flavonol.

3.2.2. Pereaksi Smith-Metcalfe

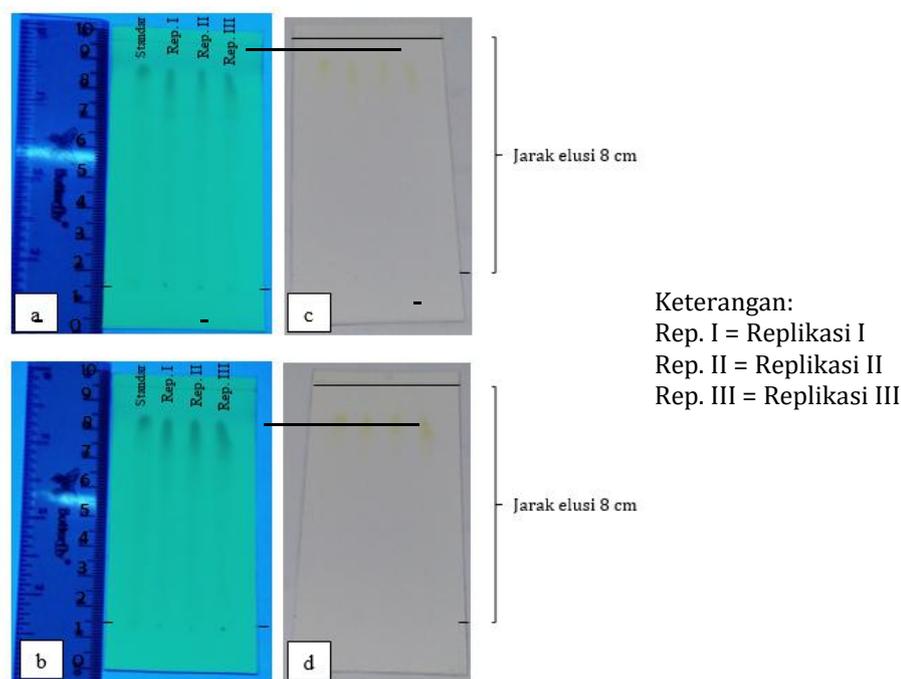
Hasil identifikasi sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) tiga kali replikasi dengan penambahan HCl pekat dan dipanaskan menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid dengan adanya perubahan warna dari coklat ekstrak menjadi putih kekuningan. Hal ini sesuai dengan kontrol baku kuersetin sebagai pembanding yang memiliki perubahan warna yang serupa yaitu warna putih kekuningan.



Gambar 2. Hasil uji flavonoid dengan pereaksi Smith-Metcalfe buah alpukat biasa (a) dan buah alpukat mentega (b) positif mengandung flavonoid, ditunjukkan dengan warna putih kekuningan yang serupa dengan baku kuersetin

Gambar 2 menunjukkan hasil uji flavonoid dengan pereaksi Smith-Metcalfe. Penambahan HCl pekat untuk menghidrolisis dan memutus ikatan glikosida. Pemanasan berfungsi untuk mempercepat reaksi hidrolisis yang terjadi, sehingga terjadi perubahan warna dari coklat ekstrak menjadi putih.

3.3. KLT



Gambar 3. Hasil KLT buah alpukat biasa (a) dan buah alpukat mentega (b) pada sinar UV 254 nm menunjukkan warna bercak kuning kecoklatan yang serupa dengan standar kuersetin. Hasil KLT buah alpukat biasa (a) dan buah alpukat mentega (b) setelah disemprot reagen $AlCl_3$ menunjukkan warna bercak kuning intensif yang serupa dengan standar kuersetin.

Gambar 3 menunjukkan hasil KLT positif mengandung flavonoid pada sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana*

Mill.) pada masing-masing replikasi. Hasil ditunjukkan dengan nilai hRf dan warna bercak yang sama yaitu warna kuning kecoklatan antara sampel dengan pembanding standar kuersetin. Penambahan reagen semprot $AlCl_3$ menunjukkan bercak warna kuning menjadi lebih intensif, hal ini terjadi karena adanya pembentukan senyawa kompleks. Pada fase gerak, jarak pengembangan yang ditempuh adalah 8 cm. Hasil KLT buah alpukat biasa dan alpukat mentega dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil KLT buah alpukat biasa

Replikasi	hRf	Warna bercak pada sinar UV	Penampak bercak
		254 nm	$AlCl_3$
1	86	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
2	86	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
3	86	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
Baku kuersetin	88	Kuning kecoklatan	Kuning intensif

Tabel 3. Hasil KLT buah alpukat mentega

Replikasi	hRf	Warna bercak pada sinar UV	Penampak bercak
		254 nm	$AlCl_3$
1	85	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
2	85	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
3	85	Kuning kecoklatan	Kuning intensif
Baku kuersetin	87	Kuning kecoklatan	Kuning intensif

Uji kualitatif ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan ekstrak etanol 70% buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dengan pereaksi Wilstater, pereaksi Smith-Metcalfe, dan KLT diperoleh hasil positif mengandung flavonoid. Hasil uji kualitatif ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji kualitatif flavonoid

Uji Kualitatif Flavonoid	Standar baku kuersetin	Hasil	
		Ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa	Ekstrak etanol 70% buah alpukat mentega
Pereaksi Wilstater	Warna orange	Warna orange (Positif)	Warna orange (Positif)
Pereaksi Smith-Metcalfe	Warna putih	Warna putih (Positif)	Warna putih (Positif)
KLT	Warna bercak kuning kecoklatan	Warna bercak kuning kecoklatan (Positif)	Warna bercak kuning kecoklatan (Positif)

3.4. Uji kuantitatif

3.4.1. Penentuan *operating time*

Penentuan *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil yaitu ketika sampel bereaksi sempurna dan membentuk senyawa kompleks (Gandjar & Abdul, 2007). *Operating time* dilakukan dengan menggunakan larutan baku kuersetin 100 ppm dengan interval waktu 2 menit dan dilakukan selama 60 menit. Hasil penentuan *operating time* diperoleh pada menit ke 34.

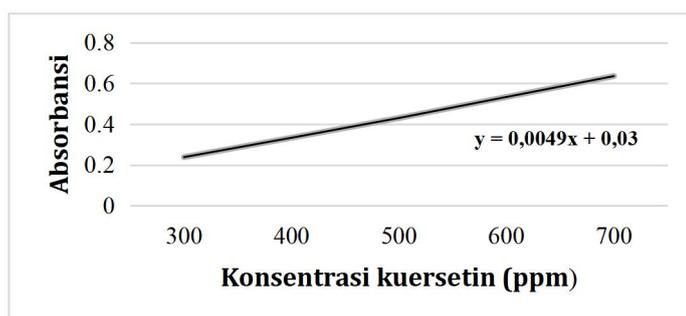
3.4.2. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang yang dihasilkan suatu senyawa pada serapan maksimum (Gandjar & Abdul, 2007). Alasan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang saat mencapai serapan maksimum, selain itu juga memiliki daya serap yang relatif konstan.

Penentuan panjang gelombang maksimum untuk kuersetin dengan cara membaca serapan larutan baku kerja kuersetin dengan konsentrasi 100 ppm pada panjang gelombang 370-450 nm. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini yaitu 413,6 nm.

3.4.3. Penentuan kurva baku

Pembuatan kurva baku menggunakan larutan baku kuersetin dengan konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm. Pemilihan konsentrasi didasarkan pada hukum Lambert-Beert yang menyatakan syarat serapan adalah 0,2-0,8 untuk menghindari terjadinya kesalahan fotometrik, sehingga kesalahan analisis masih dalam batas yang diterima yaitu 0,5-1 %. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan panjang gelombang maksimum 413,6 dan *operating time* selama 34 menit.



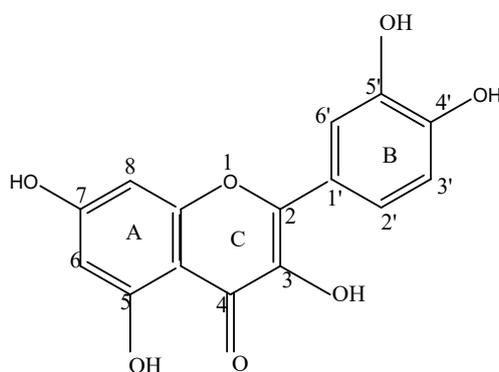
Gambar 4. Kurva baku kuersetin yang diukur pada panjang gelombang 413,6 nm dengan *operating time* pada menit ke 34

Gambar 4 menunjukkan bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan nilai absorbansi, semakin besar konsentrasi larutan baku standar kuersetin maka semakin tinggi pula nilai absorbansi yang dihasilkan. Pada pengukuran absorbansi diperoleh persamaan regresi kuersetin $y = 0,0049x + 0,03$. Hasil nilai linearitas ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r)

sebesar 0,9999. Nilai (r) yang diperoleh mendekati angka 1 menunjukkan bahwa persamaan regresi tersebut adalah linier, sehingga dapat dikatakan bahwa absorbansi dan konsentrasi memiliki korelasi yang sangat kuat.

3.4.4. Penentuan kadar flavonoid total dalam sampel buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.)

Preparasi sampel dari masing-masing replikasi dilakukan sebanyak tiga kali, bertujuan untuk memperoleh data yang lebih akurat. Digunakan kuersetin sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol. Struktur kuersetin dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Struktur kuersetin (Azizah, *et al.*, 2014)

Kandungan flavonoid total ditentukan berdasarkan reaksi kolorimetri yaitu setelah sampel direaksikan dengan $AlCl_3$ dalam medium asam. Penambahan $AlCl_3$ dalam sampel dapat membentuk kompleks antara aluminium klorida dengan kuersetin sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visibel (tampak) dan ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. Fungsi penambahan asam asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visibel (tampak).

Tabel 5. Hasil penetapan kadar flavonoid buah alpukat biasa

Sampel / replikasi	Pengulangan tiap replikasi	Kadar (%)	Rata-rata kadar (%)	SD	KV (%)
Buah alpukat biasa 1	1	10,88	10,94		
	2	10,96			
	3	10,98			
Buah alpukat biasa 2	1	10,92	10,92	0,0360	0,33%
	2	10,90			
	3	10,94			
Buah alpukat biasa 3	1	10,96	10,99		
	2	11,00			
	3	11,00			

Berdasarkan data pada tabel 5 dapat dilihat bahwa sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) memiliki kadar rata-rata flavonoid total yaitu 10,95% dengan koefisien variasi sebesar 0,33%.

Tabel 6. Hasil penetapan kadar flavonoid buah alpukat mentega

Sampel / replikasi	Pengulangan tiap replikasi	Kadar (%)	Rata-rata kadar (%)	SD	KV (%)
Buah alpukat mentega 1	1	10,22	10,29	0,0289	0,28%
	2	10,29			
	3	10,35			
Buah alpukat mentega 2	1	10,33	10,34	0,0289	0,28%
	2	10,33			
	3	10,35			
Buah alpukat mentega 3	1	10,26	10,29	0,0289	0,28%
	2	10,31			
	3	10,31			

Pada tabel 6 dapat dilihat bahwa ekstrak etanol 70% buah alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) memiliki kadar rata-rata flavonoid total yaitu 10,31% dengan koefisien variasi sebesar 0,28%. Hal ini menunjukkan kadar rata-rata flavonoid total pada sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) relatif lebih tinggi dibandingkan dengan alpukat biasa (*Persea americana* Mill.). Nilai koefisien variasi pada sampel buah alpukat biasa dan alpukat mentega memenuhi persyaratan koefisien variasi karena kurang dari 2%. Hal tersebut menunjukkan bahwa data pada penetapan kadar flavonoid total dalam buah alpukat biasa dan alpukat mentega diperoleh dengan tingkat ketelitian kerja yang baik.

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
KADAR FLAVONOID TOTAL	Equal variances assumed	.031	.862	31.885	16	.000	.64333	.02018	.60056	.68611
	Equal variances not assumed			31.885	15.998	.000	.64333	.02018	.60056	.68611

Gambar 6. Hasil uji statistik *Independent Samples T-Test*

Gambar 6 menunjukkan hasil uji statistika *Independent Samples T-Test*. Uji statistika menggunakan uji *Independent Samples T-Test* dilakukan untuk mengetahui perbandingan kedua kadar dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil uji *Independent Samples T-Test* menunjukkan di

kolom *sig.* (2 tailed) yaitu sebesar $p = 0,000 (< 0,05)$ yang artinya ada perbedaan signifikan rata-rata kadar flavonoid total pada sampel ekstrak etanol 70% buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dengan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.).

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) memiliki kadar rata-rata flavonoid total sebesar 10,95% dengan koefisien variasi sebesar 0,33% relatif lebih tinggi dibandingkan dengan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) sebesar 10,31% dengan koefisien variasi sebesar 0,28%.

Daftar pustaka

- Depkes RI. (1989). *Materia Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Dirjen POM.
- Fathonah, R., Indriyanti, A., & Kharisma, Y. (2014). Labu kuning (*Cucurbita moschata* Durch.) untuk penurunan kadar glukosa darah puasa pada tikus model diabetik. *Global Medical & Health Communication*, 2, 27–33.
- Gandjar, I. G., & Abdul, R. (2007). *Kimia farmasi analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ipandi, I., Triyasmono, L., & Prayitno, B. (2016). Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun Kajajahi (*Leucosyke capitellata* Wedd.). *Pharmascience*, 3(1), 93–100.
- Malangngi, L., Sangi, M., & Paendong, J. (2012). Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*, 1(1), 5.
- Priyanto, J. A., Pujiyanto, S., & Rukmi, I. (2014). Flavonoids production capability test of tea Mistletoe (*Scurrula atropurpurea* BL. Dans) endophytic bacteria isolates. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 22(4), 89-96.
- Riyanto, A. (2011). *Pengolahan dan analisis data kesehatan*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Sari, A. K., & Ayuhecaria, N. (2017). Penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak beras hitam (*Oryza Sativa* L) dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(2), 327–335.
- Snyder, L. R., & et al. (2010). *Introduction to modern liquid chromatography 3rd ed*, Hoboken: John Wiley and Sons Inc. (3rd ed). Hoboken: John Wiley and Sons Inc.
- Yuda, K. A., Anthara, M. S., & Dharmayudha, A. A. G. O. (2013). Identifikasi golongan senyawa kimia ekstrak etanol buah Pare (*Momordica charantia*) dan pengaruhnya terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) yang diinduksi aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*, 5(2), 87–95.